

Utjecaj roka berbe na sastav i kvalitetu djevičanskih maslinovih ulja sorte Rosinjola

Karolina Brkić Bubola^{1*}, Olivera Koprivnjak², Barbara Sladonja¹,
Dubravka Škevin³, Ivana Belobrajčić⁴

¹Institut za poljoprivredu i turizam, K. Huguesa 8, 52440 Poreč, Hrvatska

²Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, Hrvatska

³Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

⁴Ital-Ice d.o.o., M. Vlašića 47, 52440 Poreč, Hrvatska

originalni znanstveni rad

Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj roka berbe maslina autohtone istarske sorte Rosinjola na udio ulja u tijestu maslina te na sastav i kvalitetu dobivenih ulja. U kasnom roku berbe utvrđena je viša vrijednost udjela ulja u suhoj tvari tijesta maslina nego u ranom roku berbe, ali je kasna berba negativno utjecala na tržišne parametre kvalitete dobivenog ulja. Udio oleinske kiseline lagano se smanjio u kasnom roku berbe, a udio linolne kiseline je porastao. Omjer oleinska/linolna kiselina, koncentracije ukupnih fenola i *orto*-difenola, te vrijednosti indeksa gorčine i antioksidacijski kapacitet smanjili su se u ulju dobivenom u kasnom roku berbe. Kasni rok berbe utjecao je i na opadanje koncentracije klorofila i karotenoida te vrijednosti parametara boje (a^* , b^* i C) u dobivenim uljima, a svjetlina ulja (L^*) se povećala. U uljima iz kasnog roka berbe koncentracije većine hlapivih tvari koje utječu na pozitivna mirisna svojstva sorte Rosinjola su opale, osim aldehida kojima je koncentracija blago narasla. Senzorska ocjena ulja iz kasnog roka berbe se smanjila, kao i intenziteti svojstava *maslina*, *jabuka*, *trava*, *gorko* i *pikantno* u tom ulju, dok su se intenziteti svojstava *slatko* i *ostalo zrelo voće* povećali. Ulja dobivena u ranom roku berbe opisana su kao skladna i trpka s izraženim zelenim mirisnim notama, a u ulja dobivena u kasnom roku berbe kao prezrela i bez svježine. Dobiveni rezultati izuzetno su važni zbog određivanja optimalnog trenutka berbe kao i razumijevanja potencijala sorte Rosinjola za proizvodnju visoko kvalitetnih djevičanskih maslinovih ulja s ciljanim i posebnim karakteristikama.

Ključne riječi: djevičansko maslinovo ulje, rok berbe, parametri kvalitete, senzorski profil, kemijski sastav

Uvod

Posljednjih godina sve više raste potražnja za djevičanskim maslinovim uljima zbog njihovog pozitivnog utjecaja na zdravlje te njihovih posebnih i jedinstvenih senzorskih svojstava (Kalua i sur., 2007). Poznavanje osobina neke sorte maslina i pripadajućeg maslinovog ulja izuzetno je važno zbog određivanja optimalnog trenutka berbe, kao i zbog osobina ulja po kojima je ono specifično i razlikuje se od ulja neke druge sorte. Sortna ulja imaju posebnu važnost u očuvanju bioraznolikosti autohtonih sorti, dodanu vrijednost na tržištu te predstavljaju izuzetan doprinos turističkoj i gastronomskoj ponudi (Žanetić, 2009). Sorta Rosinjola (sinonimi: Rošinjola, Rušinjola, Rosulja) je autohtona istarska sorta maslina koja je uz Istarsku bjelicu, Bužu i Črnu jedna od najzastupljenijih u Istri, a interes za sadnjom takvih sorti sve više raste (Milotić i sur., 2005; Poljuha i sur., 2008a). Pored sorte, i rok berbe, odnosno stupanj zrelosti plodova od kojih je ulje proizvedeno bitni su čimbenici koji utječu na sastav i kvalitetu djevičanskih maslinovih ulja. Dosadašnja istraživanja pokazala su da se tijekom

dozrijevanja maslina sastav ulja mijenja, ali za svaku sortu te promjene nisu jednake (Škevin i sur., 2003; Kalua i sur., 2007; Benčić i sur., 2009; Baccouri i sur., 2008; Dag i sur., 2011). Zbog toga je u ovom istraživanju utvrđen utjecaj roka berbe maslina autohtone istarske sorte Rosinjola na udio ulja u tijestu maslina te osnovne parametre kvalitete, sastav masnih kiselina, koncentraciju fenola i *orto*-difenola, antioksidacijski kapacitet, indeks gorčine, boju, pigmente, koncentraciju hlapivih tvari i senzorske karakteristike dobivenih sortnih ulja. Pripadnost istraživanih stabala sorti Rosinjola prethodno je morfološki i genetički određena (Milotić i sur., 2005; Poljuha i sur., 2008a), čime je osigurana pouzdanost jedinki izdvojenih za istraživanje.

Materijali i metode rada

Priprava uzoraka djevičanskih maslinovih ulja i tijesta maslina

Uzorci djevičanskog maslinovog ulja sorte Rosinjola dobiveni su od plodova ubranih u dva roka berbe, rani

*Corresponding author: Tel.: ++385 52 408 300; Fax:++385 52 431 659; E-mail address: karolina@iptpo.hr

(18.10.2006.) i kasni (01.12.2006.). Stupanj zrelosti plodova maslina određen je metodom koja se temelji na procjenjivanju boje kože i pulpe plodova (Gutierrez i sur., 1999). Rani rok berbe odgovara ulju dobivenom od plodova u stupnju zrelosti 1,57 (masline s epidermom zelenom ili žućkastom s crvenkastim mrljama), a kasni rok berbe odgovara ulju dobivenom od plodova u stupnju zrelosti 3,79 (masline s epidermom crnom i pulpom potpuno zelenom). U svakom roku berbe ručno je pobrano oko 100 kg maslina s 3 stabla maslina uzgojenih u zapadnom dijelu Istarske regije (Hrvatska). Plodovi maslina prerađeni su u roku od 24 sata nakon berbe, u industrijskim uvjetima (postrojenje Cultivar 500, Oliomio, Toscana Enologica Morri, Italija; metalni mlin s noževima; vertikalna mjesilica od inoks materijala; miješenje pri 26 ± 1 °C/35 minuta; dvofazni centrifugalni dekanter). Nakon prerade uzorci ulja su filtrirani kroz sloj hidrofilne vate, pretočeni u tamne staklene bočice napunjene do vrha i zatvorene plastičnim čepom na navoj te čuvani na sobnoj temperaturi do analize. Uzorci tijesta maslina za određivanje udjela ulja u suhoj tvari (oko 300 g) uzeti su nakon mljevenja maslina. Osušeni su na temperaturi od 80 °C do konstantne mase te hermetički zatvoreni i skladišteni na temperaturi od -20 °C do trenutka analize.

Određivanje udjela ulja u tijestu maslina

Ekstrakcija ulja iz tijesta maslina provedena je Soxtec metodom (Brkić i sur., 2006). Za ekstrakciju ulja iz tijesta maslina korišten je poluautomatski Soxtec aparat (Soxtec Avanti 2055, Foss tecator, Švedska). Analize su napravljene u tri ponavljanja. Rezultati su izraženi kao udio ulja na suhu tvar tijesta maslina (%) i prikazani kao prosječna vrijednost tri paralelna određivanja \pm standardna devijacija.

Tržišni parametri kvalitete

Udjel slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj i spektrofotometrijski indeksi (K232, K270 i ΔK) određeni su prema analitičkim metodama opisanim u European Commission Regulation (EEC, 1991). Uzorci su analizirani u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost tri paralelna određivanja \pm standardna devijacija.

Sastav masnih kiselina

Metil esteri masnih kiselina su pripremljeni prema standardnoj metodi (ISO 5509:1990). Sastav masnih kiselina je određen plinsko-kromatografskim razdvajanjem njihovih metil estera (ISO 5508:2000) na kapilarnoj koloni (Agilent DB-23, 60 m, 0,25 mm, 0,25 μ m) koristeći Agilent Technologies 6890N

Network GC sustav (Santa Clara, SAD). Pikovi metil estera masnih kiselina identificirani su korištenjem standarda metil estera masnih kiselina (Sigma, Njemačka). Sastav masnih kiselina je izražen u udjelima (%) u odnosu na ukupan zbroj površina pikova masnih kiselina (metoda unutarnje normalizacije). Uzorci su analizirani u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost tri paralelna određivanja \pm standardna devijacija.

Ukupni fenoli, orto-difenoli, antioksidacijski kapacitet i indeks gorčine

Ukupni fenoli i orto-difenoli su ekstrahirani prema metodi koju su opisali Montedoro i sur. (1992), a određeni su kolorimetrijski prema Folin-Ciocalteu metodi (Gutfinger, 1981) mjerenjem apsorbancije na 725 nm (ukupni fenoli) i na 350 nm (orto-difenoli). Rezultati su izraženi kao mg kaveinske kiseline po kg ulja. Antioksidacijski kapacitet u metanolnim ekstraktima fenolnih tvari maslinovog ulja je izmjeren prema metodi "gašenja" slobodnog DPPH radikala (Brand-Williams i sur., 1995), a rezultati su izraženi kao mmoli Trolox ekvivalenta po kg ulja. Indeks gorčine (K_{225}) određen je prema metodi koju su opisali Gutiérrez Rosales i sur. (1992). Uzorci su analizirani u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost tri paralelna određivanja \pm standardna devijacija.

Boja ulja i koncentracija pigmenata

Boja djevičanskog maslinovog ulja izražena je numerički kao kromatske koordinate a^* i b^* , kroma (C) i svjetlina ulja (L^*) prema metodi Escolara i sur. (2002). Koncentracije klorofila i karotenoida određene su prema metodi Mínguez-Mosquera i sur. (1991) te su izražene kao mg feofitina a , odnosno luteina po kg ulja. Analize su napravljene u tri ponavljanja. Rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost tri paralelna određivanja \pm standardna devijacija.

Ekstrakcija, identifikacija i kvantifikacija hlapivih tvari

Ekstrakcija, identifikacija i kvantifikacija hlapivih tvari djevičanskih maslinovih ulja je provedena pomoću mikroekstrakcije na čvrstim nosačima iz natprostora uzorka (eng. *headspace solid phase microextraction*, HS-SPME) udružene s plinskom kromatografijom prema metodi koju su opisali Koprivnjak i sur. (2009). Za HS-SPME korišteno je divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksansko (DVB/CAR/PDMS) vlakno duljine 1 cm i debljine

omotača polimera 50/30 mm. Plinsko-kromatografske analize napravljene su pomoću plinskog kromatografa Varian 3350 (Varian, SAD) opremljenog s injektorom za djelomično unošenje uzorka (eng. *split/splitless*), plameno-ionizacijskim detektorom i kapilarnom kolonom od taljenog silicijevog dioksida Rtx-WAX duljine 30 m, unutarnjeg promjera 0,25 mm i debljine filma selektivne tekućine 0,25 μ m (Restek, Bellefonte, SAD). Rezultati su prikazani kao koncentracije skupina hlapivih tvari (ukupne hlapive tvari, ukupni aldehidi, ukupni alkoholi, ukupni esteri, ukupni ketoni, ukupne C6 i C5 hlapive tvari) koje predstavljaju zbroj koncentracija pojedinačnih hlapivih tvari. Uzorci su analizirani u tri ponavljanja, a rezultati predstavljaju prosječnu vrijednost triju paralelnih određivanja zbrojeva pojedinih skupina hlapivih spojeva \pm standardna devijacija i izraženi su kao mg hlapivih tvari/kg ulja.

Senzorska analiza

Kvantitativnu deskriptivnu senzorsku analizu maslinovih ulja proveo je panel koji se sastojao od 8 iskusnih senzorskih analitičara (ocjenjivača). Senzorska svojstva kvantificirana su pomoću diskontinuirane skale intenziteta sa 6 stupnjeva percepcije svojstva - 0 (potpuno nepostojanje), 1 (jedva uočljivo), 2 (blago uočljivo), 3 (srednje uočljivo), 4 (jako uočljivo), 5 (krajnje intenzivno). Ocjenjivačima je dozvoljeno da intenzitete ocjenjuju međuvrijednostima (0,5; 1,5; 2,5; 3,5 i 4,5). Za

ocjenjivanje kvalitete maslinovog ulja, primijenjena je skala u rasponu vrijednosti od 1 (najniža kvaliteta) do 9 (najbolja kvaliteta).

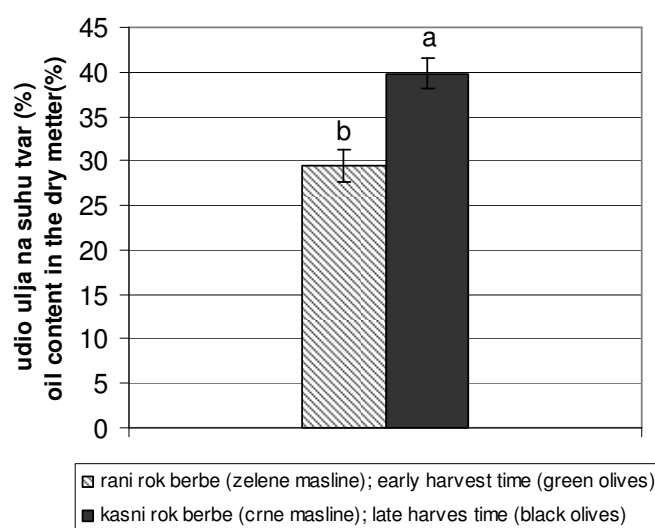
Statistička analiza

Razlike između dobivenih rezultata testirane su uz pomoć jednosmjerne analize varijance na razini značajnosti od 5 %. Homogenost varijance je testirana Lavenovim testom, a prosječne vrijednosti su uspoređene pomoću Tukeyevog testa signifikantne razlike. Sve statističke analize provedene su pomoću softverskog paketa Statistica verzija 9 (Stat-Soft, Tulsa, OK, SAD).

Rezultati i rasprava

Utjecaj na udio ulja u plodu masline

Udio ulja u plodu masline jedan je od važnih parametara za određivanje ekonomske vrijednosti sorte masline (Muik i sur., 2003), te optimalnog trenutka berbe u smislu postizanja visokih prinosa. Utvrđena je statistički značajna razlika u udjelima ulja u suhoj tvari tijesta maslina ubranih u različitim rokovima berbe (Slika 1). U kasnom roku berbe utvrđena je viša vrijednost (približno 40 %) nego u ranom (približno 30 %). Ovi rezultati su u skladu s ranijim rezultatima istraživanja Brkić i sur. (2006) o udjelu ulja u tijestu maslina sorte Rosinjola koji se kretao u rasponu od 26,5 do 45,4 %.



Slika 1. Utjecaj roka berbe na udjel ulja u suhoj tvari tijesta maslina sorte Rosinjola.

Rezultati su prosječna vrijednost triju ponavljanja \pm SD; različita slova označavaju statistički značajne razlike (Tukey test, $p \leq 0,05$)

Fig 1. Influence of harvest time on oil content on dry matter in Rosinjola cultivar olive paste.

Results are means of triplicate analyses \pm SD; the means labelled by different letters are significantly different (Tukey's test, $p \leq 0,05$)

Utjecaj na tržišne parametre kvalitete

Prema tržišnim parametrima kvalitete sva istraživana ulja sorte Rosinjola, bez obzira na rok berbe, spadala su u kategoriju ekstra djevičanskih maslinovih ulja (EEC, 1991) najvjerojatnije jer su dobivena preradom zdravih plodova unutar 24 sata od berbe maslina. Međutim, utvrđen je porast vrijednosti slobodnih masnih kiselina u uljima iz kasnog roka berbe (Tablica 1). Masline ubrane u kasnijim stupnjevima

zrelosti daju ulje s višom kiselošću zbog porasta enzimske aktivnosti unutarnjih lipaza i zbog povećane osjetljivosti ploda na patogene infekcije i mehanička oštećenja (Salvador i sur., 2001; Baccouri i sur., 2008). Također, u uljima proizvedenim od crnih plodova utvrđen je porast vrijednosti peroksidnog broja i K-brojeva (Tablica 1), parametara koji ukazuju na oksidacijske procese u ulju, što upućuje na višu kvalitetu ulja dobivenih od zelenih plodova.

Tablica 1. Utjecaj roka berbe na tržišne parametre kvalitete (slobodne masne kiseline - SMK, peroksidni broj - PB, spektrofotometrijski indeksi - K232, K270 i ΔK)^a i senzorska ocjena^b djevičanskih maslinovih ulja sorte Rosinjola
Table 1. Influence of harvest time on quality parameters (free fatty acids - FFA, peroxide value - PV, spectrophotometric indices - K232, K270 and ΔK)^a and sensory score^b of Rosinjola cultivar virgin olive oils

	R	K	EDMU/EVOO ^c
SMK (% oleinska kiselina) / FFA (% oleic acid)	0,2 ± 0,0 b	0,6 ± 0,1 a	≤ 0,8
PB (meq O ₂ /kg) / PV (meq O ₂ /kg)	4 ± 0 b	12 ± 0 a	≤ 20
K232	1,68 ± 0,05 b	2,03 ± 0,01 a	≤ 2,50
K270	0,12 ± 0,01 b	0,16 ± 0,02 a	≤ 0,22
ΔK	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	≤ 0,01
Senzorska ocjena / Sensory score	7,78 ± 0,09 a	6,81 ± 0,18 b	≥ 6,50

Različita slova unutar jednog retka označavaju statistički značajne razlike (Tukey test, $p \leq 0,05$).

^aRezultati su prosječna vrijednost triju ponavljanja ± SD

^bRezultati su prosječna vrijednost podataka dobivenih od 8 ocjenjivača ± SD

^cTrenutne granične vrijednosti za kategoriju ekstra djevičansko maslinovo ulje (EEC, 1991), osim za senzorsku ocjenu R-rani rok berbe (zelene masline), K-kasni rok berbe (crne masline).

The means within each row labelled by different letters are significantly different (Tukey's test, $p \leq 0,05$).

^aResults are means of triplicate analyses ± SD

^bResults are means of data obtained from eight assessors ± SD

^cActual limits for extra virgin olive oil category (EEC, 1991), except for sensory score

R-early harvest time (green olives), K-late harvest time (black olives)

Utjecaj na sastav masnih kiselina

Rok berbe plodova maslina od kojih je proizvedeno ulje sorte Rosinjola značajno je utjecao samo na udio oleinske i linolne kiseline, dok kod udjela ostalih masnih kiselina nije bilo statistički značajnih razlika (Tablica 2). Udio oleinske kiseline lagano se smanjio u ulju iz kasnog roka berbe (Tablica 2). Opadanje udjela oleinske kiseline u ulju tijekom zrenja maslina zabilježili su i drugi autori kod različitih sortnih ulja (Menz and Vriesecoop, 2010; Dag i sur., 2011). Međutim, udio oleinske kiseline bio je visok (iznad 74 %) u uljima iz oba roka berbe. Osim sorte karakteristike, to je vjerojatno i posljedica zemljopisnog položaja u kojem su masline rastle. Istarski poluotok smatra se rubnim područjem uzgoja maslina (Morettini, 1972) te ulja koja potječu iz hladnijih regija su općenito bogatija oleinskom kiselinom. Nasuprot ponašanju oleinske, udio linolne kiseline se povećao u uljima dobivenim

od crnih plodova maslina u odnosu na ona dobivena od zelenih plodova (Tablica 2). Dag i sur. (2011) su zaključili da snižavanje temperatura tijekom dozrijevanja maslina može utjecati na povećanje desaturacije oleata do linoleata, kao što je to zabilježeno kod suncokretovih sjemenki (Martinez-Rivas i sur., 2000). Postupno snižavanje srednje mjesečne temperature zraka tijekom listopada (15,8 °C) i studenog (11,5 °C) u 2006. g. zabilježeno u klimatološko meteorološkoj postaji Poreč (Državni hidrometeorološki zavod) najvjerojatnije je utjecalo na snižavanje udjela oleinske i istovremeno povećanje linolne kiseline u ulju tijekom dozrijevanja maslina. Omjer oleinske i linolne kiseline smatra se pokazateljem oksidacijske stabilnosti ulja (Velasco i Dobarganes, 2002) pa se može zaključiti da je ulje iz ranog roka berbe imalo višu oksidacijsku stabilnost od onog iz kasnog roka berbe (Tablica 2).

Tablica 2. Utjecaj roka berbe na sastav masnih kiselina (% na ukupne) djevičanskih maslinovih ulja sorte Rosinjola
Table 2. Influence of harvest time on fatty acid profile (% on total) of Rosinjola cultivar virgin olive oils

	R	K
Palmitinska / Palmitic (C16:0)	11,85 ± 0,15 a	11,94 ± 0,54 a
Palmitoleinska / Palmitoleic (C16:1)	1,08 ± 0,44 a	1,58 ± 0,31 a
Margarinska / Margaric (C17:0)	0,04 ± 0,01 a	0,06 ± 0,03 a
Stearinska / Stearic (C18:0)	2,51 ± 0,30 a	2,26 ± 0,51 a
Oleinska / Oleic (C18:1)	76,69 ± 0,17 a	74,36 ± 0,23 b
Linolna / Linoleic (C18:2)	6,22 ± 0,38 b	8,26 ± 0,56 a
Linolenska / Linolenic (C18:3)	0,70 ± 0,08 a	0,78 ± 0,02 a
Arahinska / Arachidic (C20:0)	0,32 ± 0,14 a	0,28 ± 0,17 a
Gadoleinska / Eicosenoic (C20:1)	0,34 ± 0,17 a	0,36 ± 0,19 a
Oleinska / linolna (Oleic / linoleic)	12,37 ± 0,72 a	9,03 ± 0,58 b

Rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost tri paralelna određivanja ± SD. Različita slova unutar jednog retka označavaju statistički značajne razlike (Tukey test, $p \leq 0,05$). R-rani rok berbe (zelene masline), K-kasni rok berbe (crne masline).

Results are means of triplicate analyses ± SD. The means within each row labelled by different letters are significantly different (Tukey's test, $p \leq 0,05$). R-early harvest time (green olives), K-late harvest time (black olives).

Utjecaj na ukupne fenole, orto-difenole, antioksidacijsku aktivnost i indeks gorčine

Budući da fenoli djeluju kao jaki antioksidansi i poboljšavaju otpornost maslinovih ulja prema oksidaciji, koncentracija ukupnih fenolnih tvari je važan čimbenik za vrednovanje ekstra djevičanskih maslinovih ulja (Bendini i sur., 2007). Koncentracija ukupnih fenola i *orto*-difenola je opala u ulju iz kasnog roka berbe, kao i izmjereni antioksidacijski kapacitet (Tablica 3), što je u podudarnosti s rezultatima ranijih istraživanja u uljima sorti Busa, Bianchera i Leccino dobivenim od plodova u različitim stupnjevima zrelosti (Škevin i sur., 2003). Intenzitet gorčine je bio proporcionalan utvrđenoj razini ukupnih fenola i opao je u ulju dobivenom od crnih plodova (Tablica 3). Slično su uočili i García i sur. (1996) u uljima španjolskih sorti dobivenih od plodova u različitim stupnjevima zrelosti. U ulju sorte Rosinjola proizvedenom od zelenih plodova utvrđena je visoka vrijednost indeksa gorčine koja je najvjerojatnije posljedica visoke razine fenolnih tvari utvrđene u tom ulju tijekom ovog istraživanja (Tablica 3), ali i u ranijim istraživanjima (Poljuha i sur., 2008b). Ovi rezultati su u skladu s rezultatima senzorske analize istog ulja (Tablica 4). Prema Gutiérrez Rosales i sur. (1992) indeks gorčine viši od 3,6 odgovara uljima s visokim ili izrazito visokim intenzitetom gorčine koji većina potrošača smatra nepoželjnim. Ulje sorte Rosinjola dobiveno preradom zelenih plodova nalazi se vrlo blizu te granice te se izražena gorčina i pikantnost mogu izdvojiti kao njegove specifične karakteristike.

Utjecaj na boju ulja i koncentraciju pigmenata

Rok berbe značajno je utjecao na boju i koncentraciju pigmenata istraživanih djevičanskih maslinovih ulja (Tablica 3). Uočeno je smanjenje koncentracije klorofila i karotenoida u kasnom roku berbe (Tablica 3). Ovo je u skladu s rezultatima istraživanja Criada i sur. (2007) u uljima sorti Arbequina i Farga te Salvadora i sur. (2001) u uljima sorte Cornicabra. Sastav i koncentracija pigmenata u djevičanskom maslinovom ulju, kao što su klorofili i karotenoidi, utječu na boju ulja i s njom su usko povezani (Mínguez-Mosquera i sur., 1991). U skladu s opadanjem koncentracije pigmenata tijekom dozrijevanja maslina, vrijednost parametra boje L^* (svjetlina) je porasla, a vrijednosti kromatskih koordinata a^* (zeleni ton) i b^* (žuti ton) te kroma C (količina bjeline) su opale (Tablica 3) što je imalo za posljedicu da je ulje sorte Rosinjola dobiveno od crnih plodova bilo svjetlije od ulja dobivenog od zelenih plodova. Također, Mínguez-Mosquera i sur. (1991) su dokazali da vrijednosti parametara boje porastom stupnja zrelosti maslina opadaju u maslinovom ulju na sličan način kao i koncentracije klorofila i karotenoida.

Utjecaj na hlapive tvari

C5 i C6 hlapive tvari, odgovorne za poželjna mirisna svojstva djevičanskih maslinovih ulja, nastaju za vrijeme mljevenja maslina i miješenja maslinovog tijesta u nizu enzimskih reakcija poznatih kao lipoksigenazni put (Sanchez i Harwood, 2002).

Tablica 3. Utjecaj roka berbe na ukupne fenole, *orto*-difenole, antioksidacijski kapacitet (AK), indeks gorčine, pigmente i boju djevičanskih maslinovih ulja sorte Rosinjola**Table 3.** Influence of harvest time on total phenols, ortho-diphenols, antioxidant capacity (AC), bitterness index, pigment content and color of Rosinjola cultivar virgin olive oils

	R	K
Ukupni fenoli / Total phenols (mg /kg)	348,67 ± 27,64 a	123,87 ± 2,99 b
<i>Orto</i> -difenoli / Ortho-diphenols (mg/kg)	26,49 ± 0,51 a	14,67 ± 0,59 b
AK/AC (mmol Trolox eq/kg)	42,79 ± 2,21 a	18,56 ± 1,22 b
Indeks gorčine / Bitterness index	3,51 ± 0,12 a	0,99 ± 0,10 b
<i>L</i> *	87,62 ± 0,00 b	95,00 ± 0,00 a
<i>a</i> *	-8,93 ± 0,00 a	-12,31 ± 0,00 b
<i>b</i> *	119,37 ± 0,01 a	82,98 ± 0,02 b
<i>C</i>	121,47 ± 0,01 a	84,60 ± 0,02 b
Klorofil / Chlorophyll (mg/kg)	6,60 ± 0,13 a	2,16 ± 0,23 b
Karotenoidi / Carotenoids (mg/kg)	3,39 ± 0,06 a	1,56 ± 0,09 b

Rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost tri paralelna određivanja ± SD. Različita slova unutar jednog retka označavaju statistički značajne razlike (Tukey test, $p \leq 0,05$). R-rani rok berbe (zelene masline), K-kasni rok berbe (crne masline).

Results are means of triplicate analyses ± SD. The means within each row labelled by different letters are significantly different (Tukey's test, $p \leq 0,05$). R-early harvest time (green olives), K-late harvest time (black olives).

U uzorku ulja dobivenom od crnih maslina koncentracija ukupnih hlapivih tvari bila je statistički značajno manja u odnosu na zelene plodove (Slika 2). Aparicio i Morales (1998) također su utvrdili opadanje ukupnih hlapivih tvari u uljima španjolskih sorti Arbequina i Picual dobivenih od nezrelih do zrelih maslina. U ulju sorte Rosinjola iz kasnog roka berbe primijećen je blagi porast ukupnih aldehida od približno 7 % u usporedbi s ranim rokom (Slika 2). Angerosa i Basti (2001) utvrdili su da većina C6 aldehida u sortnim uljima Picual i Coratina doseže najviše koncentracije kada plodovi maslina od kojih je ulje dobiveno mijenjaju boju iz zelene u ljubičastu (indeks zrelosti oko 3), a daljnjim dozrijevanjem ta koncentracija opada. Ukupni alkoholi opali su za gotovo 45 % u ulju iz kasnog roka berbe (Slika 2). Salas i Sánchez (1998) također su utvrdili opadanje C6 alkohola tijekom dozrijevanja maslina i to zbog smanjenja aktivnosti enzima alkohol dehidrogenaze koja je odgovorna za njihovo nastajanje u lipoksigenaznom putu. Smanjenje koncentracija ukupnih alkohola u istraživanim uljima sorte Rosinjola dozrijevanjem plodova maslina najvjerojatnije je utjecalo na uočeno sniženje intenziteta senzorskih svojstava *trava* i *jabuka* (Tablica 4) koji se s njima povezuju (Luna i sur., 2006). U istraživanim uzorcima ulja iz oba roka berbe utvrđene su niske koncentracije ukupnih

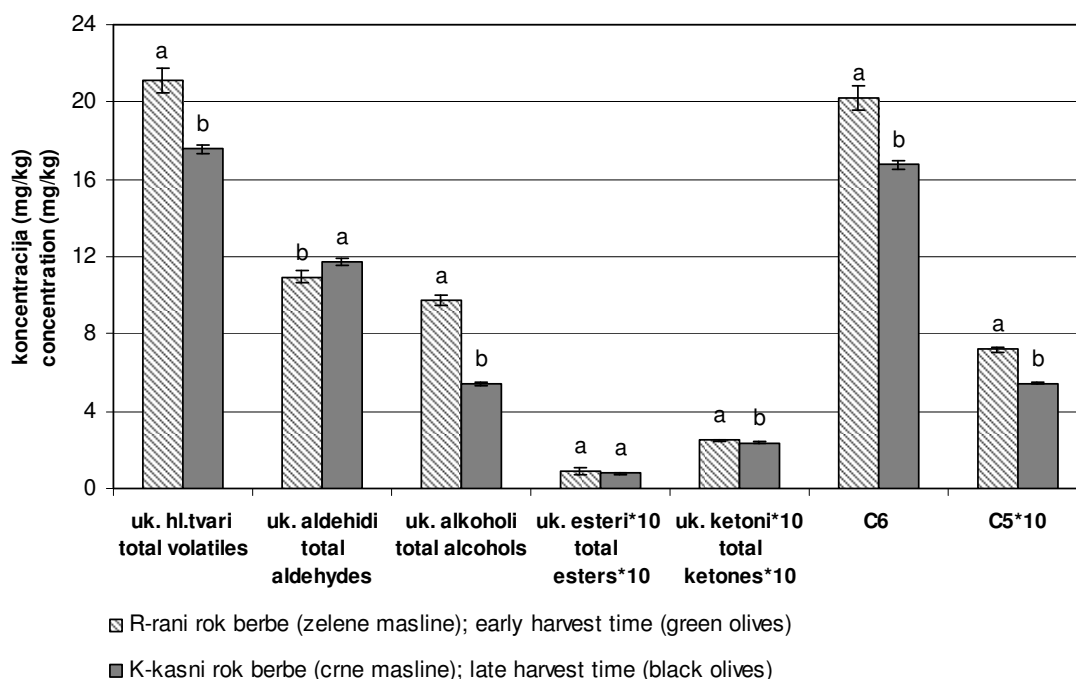
estera u odnosu na ostale detektirane hlapive tvari (Slika 2) što upućuje na nisku aktivnost enzima alkohol acil transferaze koja je odgovorna za nastanak estera u lipoksigenaznom putu (Angerosa i sur., 2004). Uočen je blagi pad koncentracije ukupnih ketona za 5 % u ulju iz kasnog roka berbe (Slika 2). Budući da se ketoni povezuju sa senzorskim svojstvima *gorko* i *pikantno* (Angerosa i sur., 2000, Luna i sur., 2006), niža koncentracija ketona najvjerojatnije je, pored smanjenog udjela fenolnih tvari, dodatno utjecala na slabiji intenzitet ovih senzorskih svojstava u ulju dobivenom od crnih maslina (Tablica 4). Rok berbe maslina statistički je značajno utjecao na koncentraciju ukupnih C6 hlapivih tvari u uljima sorte Rosinjola koja je dozrijevanjem maslina opala za 17 % (Slika 2). To je vjerojatno posljedica smanjene aktivnosti većine enzima uključenih u nastanak hlapivih tvari u lipoksigenaznom putu, a osobito alkohol dehidrogenaze (Salas i Sánchez, 1998) i lipoksigenaze (Salas i sur., 1999). Uočeni pad C6 hlapivih tvari kod ulja iz kasnijeg roka berbe povezan je i sa slabijim intenzitetom *zelenih* senzorskih svojstava u tom ulju (Tablica 4). Koncentracija ukupnih C5 hlapivih tvari značajno je opala (za 24 %) u kasnom stupnju zrelosti (Slika 2). Ovi rezultati su u skladu s rezultatima Baccouri i sur. (2008) koji su utvrdili da većina C5 aldehida i alkohola u tuniskim maslinovim uljima

opada dozrijevanjem maslina. Kalua i sur. (2007) izvijestili su da C5 aldehidi i alkoholi doprinose pozitivnoj aromi maslinovih ulja, potičući pikantna senzorska svojstva i pozitivno koreliraju s gorčinom. Moguće je da je opadanje koncentracija C5 hlapivih tvari u istraživanim uljima sorte Rosinjola također utjecalo na uočeno slabljenje intenziteta tih senzorskih svojstava tijekom dozrijevanja maslina (Tablica 4).

Utjecaj na senzorska svojstva

Ulja proizvedena od zelenih maslina ocjenjivači su opisali kao skladna ulja izraženih zelenih mirisnih nota i *trpkosti* (Tablica 4). Za osjećaj trpkost djevičanskih maslinovih ulja odgovorni su jednostavni fenoli, tj. fenolni alkoholi i kiseline (Morales i Tsimidou, 2000) i karakteristika je ulja dobivenih od nedozrelih maslina. Senzorska

ocjena ulja sorte Rosinjola iz kasnog roka berbe značajno je opala (Tablica 1) što je posljedica opadanja većine pozitivnih svojstava u uljima dobivenim od crnih plodova maslina. Dozrijevanjem maslina u istraživanim uzorcima ulja intenziteti pozitivnih senzorskih svojstava *maslina, jabuka i trava, gorko i pikantno* su se smanjili, a svojstva *slatko* povećali (Tablica 4). Senzorski ocjenjivači su primijetili kod istraživanih ulja dobivenih od crnih maslina gubitak i *ostalih* senzorskih svojstava koja se povezuju s pozitivnim i zelenim aromama maslinovog ulja te pojavu mane ulja *užeglo* koja se povezuje s oksidacijom ulja (Tablica 4). Ova ulja su također opisali kao prezrela s izraženim cvjetnim i voćnim mirisnim notama, što je u skladu s uočenim opadanjem koncentracija većine hlapivih tvari koje se povezuju s pozitivnim zelenim svojstvima maslinovih ulja (Slika 2).



Slika 2. Utjecaj roka berbe na koncentracije hlapivi tvari kod uzoraka djevičanskih maslinovih ulja sorte Rosinjola. Rezultati predstavljaju prosječnu vrijednost triju paralelnih određivanja \pm SD; različita slova označavaju statistički značajne razlike između pojedinih rokova berbe (Tukey test, $p \leq 0,05$)

Fig. 2. Influence of harvest time on concentration of volatiles in Rosinjola cultivars virgin olive oils. Results are means of triplicate analyses \pm SD; the means labelled by different letters are significantly different (Tukey's test, $p \leq 0.05$)

Tablica 4. Senzorske karakteristike djevičanskih maslinovih ulja sorte Rosinjola ovisno o roku berbe
Table 4. Sensory characteristics of Rosinjola cultivar virgin olive oils with regard to harvest time

	R	K
Pozitivna senzorska svojstva/ Pleasant sensory characteristics		
maslina / olive fruity	2,75	2,00
jabuka / apple	1,00	0,00
ostalo voće / other fruits	1,00	1,50
trava / grass	1,50	1,00
gorko / bitter	3,00	1,00
pikantno / pungent	3,25	2,00
slatko / sweet	1,50	3,00
Negativna senzorska svojstva/ Unpleasant sensory characteristics	0,00	0,25 (užeglo/rancid)
Other sensory characteristics	cikorija / chicory sušeno aromatično bilje / dried aromatic herbs kora badema / almond's peel crnogorica / pine radič / radichio trpko / astrigent	marelica / apricot kuhano voće / boiled vegetables kamilica / camomile kuhana rajčica / boiled tomato cvjetača / cauliflower kadulja / sage cimet / cinnamon prezrelo / overripe

Rezultati su izraženi kao medijan pojedinačnih intenziteta određenog senzorskog svojstva utvrđenih od 8 članova panela. Brojevima od 0-5 označeni su intenziteti percepcije određenog svojstva: 0 (potpuno nepostojanje), 1 (jedva uočljivo), 2 (blago uočljivo), 3 (srednje uočljivo), 4 (jako uočljivo), 5 (krajnje intenzivno). R-rani rok berbe (zelene masline), K-kasni rok berbe (crne masline).

Results are expressed as medians of eight assessments for each descriptor. Scale from 0 to 5 represents the perception intensity of sensory characteristics: 0 (no perception), 1 (scarce), 2 (light), 3 (middle), 4 (strong), 5 (extreme). R-early harvest time (green olives), K-late harvest time (black olives).

Zaključak

Rezultati ovog istraživanja važan su doprinos karakterizaciji djevičanskih maslinovih ulja sorte Rosinjola te određivanju optimalnog trenutka berbe u svrhu dobivanja proizvoda s ciljanim i posebnim karakteristikama. U promatranoj godini uzgoja, utvrđen je viši udio ulja u suhoj tvari tijesta maslina u kasnom nego u ranom roku berbe, ali je kasna berba negativno utjecala na tržišne parametre kvalitete dobivenog ulja. Dozrijevanje maslina od zelenih do crnih plodova, bez promjene boje mesa, imalo je značajan utjecaj na senzorski i kemijski profil dobivenih ulja. Ulje iz kasne berbe imalo je niže vrijednosti koncentracija hlapivih tvari arome i ukupnih fenolnih tvari, što je utjecalo na snižavanje intenziteta većine pozitivnih mirisnih i okusnih svojstava ulja.

Literatura

- Angerosa, F., Basti, C. (2001): Olive oil volatile compounds from the lipoxygenase pathway in relation to fruit ripeness, *Ital. J. Food Sci.* 13, 421-428.
- Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C., Vito, R. (2000): Virgin olive oil odour notes: their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds, *Food Chem.* 68, 283-287.

- Angerosa, F., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S., Montedoro, G. (2004): Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality, *J. Chromatogr. A.* 1054, 17-31.
- Aparicio, R., Morales, M. T. (1998): Characterization of olive ripeness by green aroma compounds of virgin olive oil, *J. Agr. Food Chem.* 46, 1116-1122.
- Baccouri, O., Bendini, A., Cerretani, L., Guerfel, M., Baccouri, B., Lercker, G., Zarrouk, M., Daoud, D., Miled, B. (2008): Comparative study on volatile compounds from Tunisian and Sicilian monovarietal virgin olive oils, *Food Chem.* 111, 322-328.
- Benčić, Đ., Čoga, L., Krapac, M., Moslavac, T. (2009): Utjecaj roka berbe na masno-kiselinski sastav ekstra djevičanskih maslinovih ulja sorti Buža i Leccino u Istri, *Glasnik zaštite bilja*, 32, 66-80.
- Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2007): Phenolic molecules in virgin olive oils: A survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade, *Molecules*. 12, 1679-1719.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995): Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm. Wiss. Technol.* 28, 25-30.
- Brkić, K., Radulović, M., Sladonja, B., Lukić, I., Šetić, E. (2006): Application of Soxtec apparatus for oil content determination in olive fruit, *Riv. Ital. Sost. Grasse* 83, 115-119.

- Criado, M.N., Motilva, M.J., Goñi, M., Romero, M.P. (2007): Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars, *Food Chem.* 100, 748-755.
- Dag, A., Kerem, Z., Yogev, N., Zipori, I., Lavee, S., Ben-David, E. (2011): Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality, *Sci. Hort.* 127, 358-366.
- EEC. (1991) Characteristics of olive oil and olive-residue oil and the relevant methods of analysis. Regulation EEC/2568/91 and latter modifications. *Official Journal of European Communities*, L, 248.
- Escolar, D., Haro, M.R., Ayuso, J. (2002): An efficient method for a numerical description of virgin olive oil colour with only two absorbance measurements, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79, 769-779.
- García, J.M., Sella, S., Pérez-Camino, M.C. (1996): Influence of fruit ripening on olive oil quality, *J. Agric. Food Chem.* 44, 3516-3520.
- Gutfinger, T. (1981): Polyphenols in Olive Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58, 966-968.
- Gutierrez, F., Jimenez, B., Ruiz, A., Albi, M.A. (1999): Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties Picual and Hojiblanca and on the different components involved, *J. Agr. Food Chem.* 47, 121-127.
- Gutiérrez Rosales, F., Perdiquero, S., Gutiérrez, R., Olias, M.J. (1992): Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 394-395.
- ISO 5508 (2000): Animal and vegetable fats and oils - Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids.
- ISO 5509 (1990): Animal and vegetable fats and oils - Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids.
- Kalua, C.M., Allen, M.S., Bedgood Jr., D.R., Bishop, A.G., Prenzler, P.D., Robards, K. (2007): Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review, *Food Chem.* 100, 273-286.
- Koprivnjak, O., Škevin, D., Petričević, S., Brkić Bubola, K., Mokrovčak, Ž. (2009): Bitterness, odor properties and volatile compounds of virgin olive oil with phospholipids addition, *Lebensm. Wiss. Technol.* 42, 50-55.
- Luna, G., Morales, M.T., Aparicio, R. (2006): Characterisation of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions, *Food Chem.* 98, 243-252.
- Martinez-Rivas, J.M., Garcia-Diaz, M.T., Mancha, M. (2000): Temperature and oxygen regulation of microsomal oleate desaturase (FAD2) from sunflower, *Biochem. Soc. Trans.* 28, 890-892.
- Menz, G., Vriesekoop, F. (2010): Physical and chemical changes during the maturation of Gordal Sevillana olives (*Olea europaea* L., cv. Gordal Sevillana), *J. Agric. Food Chem.* 58, 4934-4938.
- Milotic, A., Šetić, E., Peršurić, Đ., Poljuha, D., Sladonja, B., Brščić, K. (2005): Identification and characterization of autochthonous olive varieties in Istria (Croatia), *Annales Ser. Hist. Nat.* 15, 251-256.
- Mínguez-Mosquera, M.I., Rejano-Navarro, L., Gandul-Rojas, B., Sánchez-Gómez, A.H., Garrido-Fernandez, J. (1991): Colour-Pigment Correlation in Virgin Olive Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68, 332-336.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M., Miniati, E. (1992): Simple and hydrolysable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC, *J. Agr. Food Chem.* 40, 1571-1576.
- Morales, M.T., Tsimidou, M. (2000): The role of volatile compounds and polyphenols in olive oil sensory quality. In: Handbook of Olive Oil: analysis and properties, Harwood, J., Aparicio, R. (ed.), Gaithersburg/ Maryland, USA: Aspen Publishers, pp. 393-449.
- Morettini, A. (1972): Olivocultura, Roma, Italy: Ramo Editoriale degli Agricoltori.
- Muik, B., Lendl, B., Molina-Diaz, A., AyoraCanada, M.J. (2003): Fourier Transform Raman spectrometry for the quantitative analysis of oil content and humidity in olives, *Appl. Spectrosc.* 57, 233-237.
- Poljuha, D., Sladonja, B., Šetić, E., Milotic, A., Bandelj, D., Jakše, J., Javornik, B. (2008a): DNA fingerprint of olive varieties in Istria (Croatia) by microsatellite markers, *Sci. Hort.* 115, 223-230.
- Poljuha, D., Sladonja, B., Brkić Bubola, K., Radulović, M., Brščić, K., Šetić, E., Krapac, M., Milotic, A. (2008b): A multidisciplinary Approach to the Characterization of Autochthonous Istrian Olive (*Olea europaea* L.) Varieties, *Food Technol. Biotech.* 46, 347-354.
- Salas, J.J., Sánchez, J. (1998): Alcohol dehydrogenases from olive (*Olea europaea*) fruit, *Phytochemistry*. 48, 35-40.
- Salas, J.J., Williams, M., Harwood, J.L., Sánchez, J. (1999): Lipoxygenase activity in olive (*Olea europaea*) fruit, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76, 1163-1168.
- Salvador, M.D., Aranda, F., Fregapane, G. (2001): Influence of fruit ripening on "Cornicabra" virgin olive oil quality: A study of four successive crop seasons, *Food Chem.* 73, 45-53.
- Sanchez, J., Harwood, J.L. (2002): Biosynthesis of triacylglycerols and volatiles in olives, *Eur. J. Lipid Sci Tech.* 104, 564-573.
- Škevin, D., Rade, D., Štrucelj, D., Mokrovčak, Ž., Nederal, S., Benčić, Đ. (2003): The influence of variety and harvest time on the bitterness and phenolic compounds of olive oil, *Eur. J. Lipid Sci Tech.* 105, 536-541.
- Velasco, J., Dobarganes, C. (2002): Oxidative stability of virgin olive oil, *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 104, 661-676.
- Žanetić, M. (2009): Utjecaj polifenolnih spojeva na svojstva i oksidacijsku stabilnost djevičanskih maslinovih ulja odabranih autohtonih sorta, *Disertacija, Prehrambeno - biotehnoški fakultet, Zagreb, Hrvatska*.

Received: March 9, 2012

Accepted: June 13, 2012

Influence of harvest time on the composition and quality of Rosinjola cultivar virgin olive oils

**Karolina Brkić Bubola¹, Olivera Koprivnjak², Barbara Sladonja¹,
Dubravka Škevin³, Ivana Belobrajčić⁴**

¹*Institute of Agriculture and Tourism, K. Huguesa 8, 52440 Poreč, Croatia*

²*University of Rijeka, School of Medicine, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, Croatia*

³*University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Pierottijeva 6, 10000, Zagreb, Croatia*

⁴*Ital-Ice Ltd., M. Vlašića 47, 52440 Poreč, Croatia*

original scientific paper

Summary

The aim of this investigation was to determine the influence of Rosinjola cultivar fruits harvest time on oil content in olive pastes and on composition and quality of obtained oils. In the late harvest time the higher value of oil in the dry matter of olive paste was determined than in the early harvest time, but the late harvest negatively affected oil quality parameters. The proportion of oleic acid decreased slightly in the late harvest time and linoleic acid increased. The ratio of oleic/linoleic acid, total phenols and ortho-diphenols, as well as bitterness index and antioxidant capacity decreased in the oil obtained from black fruit. Late harvest time influenced the decrease in chlorophyll and carotenoid content and color parameter values (a^* , b^* and C) in obtained oils, but lightness (L^*) increased. The concentration of volatiles responsible for positive odour of Rosinjola oils decreased, except for aldehydes which increased slightly. Sensory score of oil obtained from the late harvest time decreased, as well as intensities of sensory characteristics *olive fruity*, *apple*, *green grass*, *bitter* and *pungent*, while the intensities of characteristics *sweet* and *ripe fruits* increased. Oils obtained in the early harvest time were described as harmonious and astringent with pronounced green odour notes, and oils obtained in the late harvest time as overripe and without freshness. The obtained results are important for optimal harvest time determination and understanding the potential of Rosinjola cultivar for production of high quality virgin olive oil with targeted and specific characteristics.

Keywords: virgin olive oil, harvest time, quality characteristics, sensory profile, chemical composition